PROTOCOLE AUTOMATISÉ

Isolement automatisé d’ADN génomique à partir de sang total à l’aide de l’appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation

Mode d’emploi des produits **A1751 et A2751**



Réservé à la recherche. N’est pas destiné à une utilisation dans le cadre de procédures de diagnostic.
EP048
Révisé 6/13



Isolement automatisé d'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation

Toute la documentation technique est disponible à l'adresse : www.promega.com/protocols/
Veuillez consulter ce site Internet pour vérifier que vous utilisez la version la plus à jour de ce protocole automatisé.
Si vous avez des questions sur l'utilisation de ce système, veuillez contacter le service technique de Promega à l'adresse techserv@promega.com.



1. Description

L'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM workstation permet d'automatiser l'isolement d'ADN génomique (ADNg) à partir d'échantillons de sang total et utilise la formulation chimique du ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System. Le protocole automatisé est préconfiguré, tout en offrant la flexibilité nécessaire pour répondre aux besoins des applications génomiques à haut débit. Le système est capable de traiter n'importe quelle combinaison de volumes d'échantillons dans la gamme entière de volume de départ pour cette méthode. Les réactifs sont automatiquement ajustés en fonction du volume des échantillons individuels. L'utilisateur n'a qu'à préciser le nombre d'échantillons à traiter et le volume d'élution souhaité. Des options supplémentaires permettent à l'utilisateur de personnaliser la procédure de purification de l'ADN pour répondre à ses besoins.

2. Composants du produit et conditions de stockage

PRODUIT	RÉF.
ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System	**A1751**

Réservé à la recherche. Chaque système contient assez de réactifs pour 96 purifications, chacune à partir d'un maximum de 10 ml. Comprend :

- 23 ml Solution de protéinase K (PK)
- 130 ml Protéase alcaline (Alkaline Protease, APA)
- 1 020 ml Tampon de lyse cellulaire (Cell Lysis Buffer, CLD)
- 2 × 765 ml Tampon de liaison (Binding Buffer, BBA)
- 115 ml Résine ReliaPrep™
- 3 × 815 ml Tampon de lavage (Wash Buffer, WBA)
- 2 × 150 ml Eau sans nucléases

PRODUIT	RÉF.
ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System	**A2751**

Réservé à la recherche. Chaque système contient assez de réactifs pour 96 purifications, chacune à partir d'un maximum de 10 ml. Comprend :

- 23 ml Solution de protéinase K (PK)
- 130 ml Protéase alcaline (Alkaline Protease, APA)
- 1 400 ml Tampon de lyse cellulaire (Cell Lysis Buffer, CLD)
- 1 600 ml Tampon de liaison (Binding Buffer, BBA)
- 115 ml Résine ReliaPrep™
- 3 500 ml Tampon de lavage préparé (Prepared Wash Buffer, WBC)
- 4 × 150 ml Eau sans nucléases

Conditions de stockage : stocker le ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System à température ambiante (15–30 °C). **Ne pas** réfrigérer ou congeler les réactifs. Entre utilisations, stocker les réactifs de la plateforme recouverts ou fermés à température ambiante.

Promega Corporation · 2800 Woods Hollow Road · Madison, WI 53711-5399 USA
Numéro vert aux États-Unis 800-356-9526 · +1-608-274-4330 · Fax +1-608-277-2516
www.promega.com



Remarque : pour des renseignements sur les commandes en dehors des États-Unis, adressez-vous à une succursale ou un distributeur Promega local. Les coordonnées de ceux-ci sont disponibles au site : **www.promega.com**. Adresse électronique : **techserv@promega.com**.

Conventions de dénomination

Tout au long de ce document, les solutions fournies dans le ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System sont nommées comme suit :

- Solution de protéinase K (PK) = Solution de protéinase K
- Protéase alcaline (Alkaline Protease, APA) = Protéase alcaline
- Tampon de lyse cellulaire (Cell Lysis Buffer, CLD) = Tampon de lyse cellulaire
- Tampon de liaison (Binding Buffer, BBA) = Tampon de liaison
- Tampon de lavage (Wash Buffer, WBA) = Tampon de lavage
- Tampon de lavage préparé (Prepared Wash Buffer, WBC) = Tampon de lavage préparé

Remarque : pour Réf. A1751, comportant le Tampon de lavage (WBA), il est nécessaire de préparer ce dernier avant de le charger dans l'appareil, en ajoutant de l'éthanol à 50 % à la bouteille de tampon de lavage (WBA) tel que décrit à la section 4.A. Pour Réf. A2751, comportant le Tampon de lavage préparé (WBC), aucune préparation supplémentaire n'est requise.

3. Avant de commencer

3.A. Types d'échantillons compatibles

Les méthodes présentées dans ce document sont prévues pour le traitement d'un volume de sang total compris entre 1 et 10 ml. Une combinaison quelconque d'échantillons de sang peut être traitée en une procédure, pour autant que le volume de départ soit dans la plage recommandée. Le sang peut être prélevé en présence de la plupart des anticoagulants couramment utilisés. Le sang peut être fraîchement prélevé ou congelé. L'utilisation de sang coagulé n'est pas recommandée, car les caillots peuvent boucher les cônes d'aspiration ou de transfert des échantillons et peut donner des éluats impurs colorés. Les échantillons doivent pouvoir passer à travers une pipette sérologique standard de 10 ml. Des échantillons de sang ayant été stockés de façon non optimale peuvent être traités, cependant la quantité et la qualité de l'ADN isolé peuvent être compromises selon les conditions spécifiques. Veuillez contacter le service technique de Promega pour toute question au sujet des types d'échantillons compatibles à l'adresse suivante : **techserv@promega.com**.

3.B. Options de traitement des échantillons

Les échantillons sont traités à l'aide de tubes coniques standard de 50 ml préchargés dans l'appareil HSM. Si vous ne souhaitez pas transférer les échantillons manuellement, le système peut les transférer automatiquement à partir des tubes de récolte sous vide. Le temps de traitement total est prolongé d'environ une heure quand le transfert automatisé des échantillons est sélectionné. Lors du transfert à partir de tubes primaires, le système peut transférer le contenu entier des tubes ou jusqu'à un volume maximum déterminé. Le diamètre des tubes contenant les échantillons peut être de 13 ou 16 mm, mais des tubes d'un seul diamètre doivent être utilisés pour une série d'échantillons donnée. Les échantillons peuvent au besoin être traités à la RNase A (réactif facultatif, acheté séparément).



3.C. Options d'élution

L'ADN doit être élué à l'aide d'eau sans nucléases (comprise). Les utilisateurs peuvent choisir des volumes d'élution entre 500 et 1 500 µl. L'élution de l'ADN dans un volume bas augmente la concentration de l'ADN purifié, mais réduit le rendement total. Des volumes finaux d'élution inférieurs à 1 ml peuvent entraîner une resuspension incomplète de la résine ReliaPrep™ pour les échantillons de volume élevé, ce qui diminue la performance et augmente la présence de résine résiduelle dans les éluats. Il est possible d'utiliser un volume d'élution proportionnel au volume initial de l'échantillon. Dans ce cas, les échantillons d'un volume initial compris entre 1 et 3 ml seront élués dans 500 µl d'eau, et ceux d'un volume initial de 10 ml seront élués dans 1 500 µl d'eau. Pour les échantillons d'un volume initial compris entre 3 et 10 ml, le volume d'élution sera ajusté de façon linéaire.

Tous les ADN élués sont transférés du HSM à une plaque intermédiaire à 96 puits profonds. Si vous souhaitez stocker l'ADN dans du tampon TE, le système peut ajouter du Tris-EDTA concentré à la plaque intermédiaire. Après la centrifugation manuelle, le système peut transférer les échantillons aux récipients finaux. Ces derniers peuvent consister en tubes de 2 ml à bouchons vissés (par ex. Sarstedt Réf. 72.609) ou en une plaque à 96 puits profonds. Si vous choisissez de transférer les échantillons dans des tubes, vous serez invité à placer ceux-ci sur la plateforme suite à l'élution. Au moment de l'installation du système veuillez discuter des récipients finaux requis avec le technicien.

3.D. Quantification et évaluation de l'ADN

La qualité et la concentration de l'ADN peuvent être déterminées de diverses manières, notamment par spectrophotométrie, à l'aide de colorants fluorescents, par électrophorèse sur gel et par PCR quantitative. De nombreux rapports font état du fait que différentes méthodes de quantification de l'ADN donnent souvent des valeurs absolues inégales. Nous vous recommandons d'utiliser une même méthode pour déterminer la qualité et la quantité de l'ADN tout au long de votre procédure (c.-à-d. utiliser une même méthode pour quantifier l'ADN purifié et pour déterminer la quantité d'ADN à utiliser dans vos applications d'aval). Tout au long de ce document, des résultats des méthodes de spectrophotométrie NanoDrop® et de colorants QuantiFluor™ dsDNA (ADN double-brin) sont présentés.

4. Traitement automatisé

L'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation offre plusieurs options de traitement des échantillons. Ces options sont contrôlées sur l'interface TouchTools™. Toutes les options décrites à la section 3 sont accessibles à partir de cette interface. Consultez le *Manuel technique de l'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation*, nº TM402, pour obtenir les instructions concernant l'interface TouchTools™. Pour assistance complémentaire concernant l'interface de l'utilisateur et les options de traitement, veuillez contacter le service technique de Promega à l'adresse **techserv@promega.com**.



4.A. Matériaux supplémentaires

En plus des réactifs fournis par Promega, d'autres matériaux et réactifs doivent être préparés et fournis par l'utilisateur.

- **Éthanol à 50 % :** combiner un volume égal d'éthanol à 95–100 % de qualité USP/ACS ou biologie moléculaire à de l'eau de qualité biologie moléculaire. Mélanger. **Remarque :** l'utilisation d'alcool dénaturé contenant du méthanol ou de l'isopropanol peut réduire le rendement en ADN et sa qualité.
- **WBA préparé (pour Réf. A1751) :** ajouter 150 ml d'éthanol à 50 % (préparé ci-dessus) à chaque bouteille entière de Tampon de lavage (WBA). Bien mélanger avant l'emploi. **Remarque :** si la configuration de votre kit (Réf. A2751) comporte du Tampon de lavage préparé (WBC), n'ajoutez pas d'éthanol avant utilisation.
- **Hydroxyde de sodium à 100 mM :** préparer au moins 300 ml d'hydroxyde de sodium à 100 mM dans de l'eau déionisée pour chaque série d'échantillons. Ce réactif est utilisé pour nettoyer le système (par ex. Fisher Réf. ss276-4).
- **RNase A (facultatif) :** préparer un stock de RNase A à 4 mg/ml. Promega propose de la RNase A (Réf. A7974) préparée à la concentration recommandée.
- **Solution concentrée de Tris-EDTA (TE, facultatif) :** Promega propose une solution tampon TE concentrée 20X (pH 7,5 ; Réf. A2651). Un stock de TE concentré peut également être préparé selon la méthode préférée de votre laboratoire. Le stock doit avoir une concentration 10 à 20 fois plus élevée que la concentration finale souhaitée. Il est important de sélectionner le facteur de concentration au cours de l'installation initiale de l'appareil pour faire en sorte que la dilution appropriée soit appliquée au cours du traitement des échantillons.

Les fournitures Tecan suivantes sont nécessaires pour l'extraction de 32 échantillons. Nous recommandons d'utiliser uniquement des cônes jetables à filtre pour minimiser le risque de contamination croisée.

Description de l'article	Qté	Réf. Tecan
Cônes jetables LiHa, 1 000 µl, avec filtre	176 cônes	10 612 513
Bacs à réactif jetables, gris	6	10 613 049
Bacs jetables de 25 ml	3	30 055 743

4.B. Procédure de purification de l'ADN

L'interface principale de la méthode de purification de l'ADN est le logiciel Tecan TouchTools™. À l'aide des écrans interactifs, vous pouvez sélectionner toutes les options configurables par l'utilisateur pour la purification. Pour obtenir les instructions du système, consultez le *Manuel technique de l'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation*, nº TM402. Dans la liste des programmes disponibles, sélectionnez ReliaPrep_Blood_HSM_2_0_v1.0 et suivez les instructions de l'interface graphique TouchTools™ pour sélectionner tous les paramètres du traitement. L'interface vous guidera tout au long de la configuration du système avant le démarrage du traitement.



4.B. Procédure de purification de l'ADN (suite)

Une fois toutes les informations saisies, le système commencera la procédure de purification. Il n'y aura plus d'autres informations à saisir jusqu'à la fin de la méthode, sauf en cas de problème au cours du transfert, de la détection des échantillons ou de l'aspiration sous vide. En cas de problème, reportez-vous à la section Traitement des erreurs du *Manuel technique de l'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation*, n° TM402. Après l'élution, il vous sera demandé de centrifuger la plaque intermédiaire. Cette étape est nécessaire afin d'éliminer les particules de résines résiduelles présentes dans les éluats. Si vous avez choisi de laisser vos échantillons dans la plaque intermédiaire, ce message ne s'affichera pas, et la méthode sera alors terminée. À l'issue de la purification, le système vous demandera de retirer vos échantillons, d'éteindre la pompe à vide et de stocker les réactifs restants de la plateforme.

4.C. Étapes de purification

1. **Facultatif :** transfert des échantillons à partir de tubes primaires.
2. Détection automatique du volume des échantillons et calcul du volume des réactifs. Le volume des réactifs utilisé pour les échantillons de moins de 3 ml est identique à celui utilisé pour 3 ml de sang.
3. Le HSM agite les échantillons à 500 tours/min lorsque chaque réactif est ajouté.
4. De la protéinase K (0,02 volume) est ajoutée à chaque tube.
5. **Facultatif :** de la RNase A (0,02 volume) est ajoutée à chaque échantillon.
6. De la Protéase alcaline (0,125 volume) est ajoutée à chaque échantillon.
7. Un volume de Tampon de lyse est ajouté à chaque échantillon.
8. Après l'ajout de Tampon de lyse, les échantillons sont incubés à 65 °C pendant 30 minutes sous agitation à 500 tours/min, suivi par une période de 10 minutes d'agitation à 500 tours/min sans chaleur. Pendant ce temps, la résine ReliaPrep™ est maintenue en suspension par mélange intermittent avec un cône.
9. Du Tampon de liaison (1,2 volume) est ajouté à chaque échantillon.
10. La résine ReliaPrep™ est complètement remise en suspension, et 0,1 volume de résine est ajouté à chaque échantillon. La liaison des acides nucléiques à la résine s'effectue en incubant les échantillons pendant 20 minutes sous agitation à 550 tours/min, puis la résine est recueillie à l'aide d'un aimant pendant 20 minutes.
11. Les déchets provenant de la lyse et de la liaison sont retirés de chaque tube. Ensuite, un volume de Tampon de lavage préparé compris entre 1 et 3 ml, en fonction du volume initial de l'échantillon, est ajouté à chaque tube. Cette étape est répétée jusqu'à ce que tous les déchets aient été éliminés de tous les tubes et le tampon de lavage ajouté.
12. Les échantillons sont agités à 500 tours/min pendant 2 minutes.



4.C. Étapes de purification (suite)

13. Après agitation, les échantillons sont mélangés en pipetant pour disperser complètement la résine. Ensuite, l'appareil ajoute, sous agitation, un volume supplémentaire de Tampon de lavage préparé compris entre 4,4 et 9 ml, en fonction du volume initial de l'échantillon. Les échantillons sont agités à 500 tours/min pendant 2 minutes, puis à 700 tours/min pendant 2 minutes de plus. Après cette étape, la résine est capturée pendant 3 minutes.
14. Les déchets du premier lavage sont éliminés de chaque tube, puis 1 ml de Tampon de lavage préparé est ajouté aux échantillons. Ensuite, l'appareil ajoute, sous agitation, un volume supplémentaire de Tampon de lavage préparé compris entre 4,4 et 9 ml, en fonction du volume initial de l'échantillon. Les échantillons sont agités à 500 tours/min pendant 2 minutes, puis à 700 tours/min pendant 2 minutes de plus. Les échantillons sont ensuite soumis à une capture magnétique pendant 3 minutes.
15. Les déchets du second lavage sont éliminés de chaque tube, puis un volume d'éthanol à 50 % compris entre 4,4 et 9 ml est ajouté aux échantillons, en fonction de leur volume initial. Les échantillons sont agités à 500 tours/min pendant 4 minutes. Ils sont ensuite soumis à une capture magnétique pendant 3 minutes.
16. Tous les déchets sont éliminés colonne par colonne, et le volume calculé d'eau sans nucléases est ajouté à chaque tube. Les échantillons sont agités à 500 tours/min pendant 3 minutes, puis à 400 tours/min pendant 15 minutes à 70 °C. Une capture magnétique est effectuée pendant 5 minutes, puis les éluats sont transférés à la plaque intermédiaire.
17. Si l'option de transférer les échantillons dans une plaque ou des tubes finaux a été sélectionnée, un message s'affiche pour demander à l'utilisateur de centrifuger la plaque intermédiaire à 2 500 × g pendant 20 minutes afin d'éliminer les particules résiduelles.
18. La plaque intermédiaire est replacée dans l'appareil, puis les éluats sont transférés aux tubes finaux ou à la plaque finale.
19. La méthode est terminée.



5. Résultats du développement

Les données décrites ci-dessous sont représentatives de plusieurs groupes de données obtenues au cours du développement. Le traitement de tous les échantillons présentés a été démarré dans des tubes de 50 ml. Les éluats obtenus ont été laissés sur la plaque intermédiaire pour l'analyse.

5.A. Comparaison du rendement entre la purification automatisée et manuelle

La quantité d'ADN obtenue avec le système de purification automatisé de l'ADN ReliaPrep™ présente un rapport linéaire avec le volume initial de l'échantillon, tout au long de la plage recommandée de volume de départ. Les échantillons présentés à la Figure 1 proviennent d'un seul sujet. Chaque échantillon a été traité à l'aide de la méthode de précipitation Wizard® Genomic ou à l'aide du système automatisé ReliaPrep™. Les échantillons ont présenté un rapport A_{260}/A_{230} moyen de 2,1 et un rapport A_{260}/A_{280} moyen de 2,0.

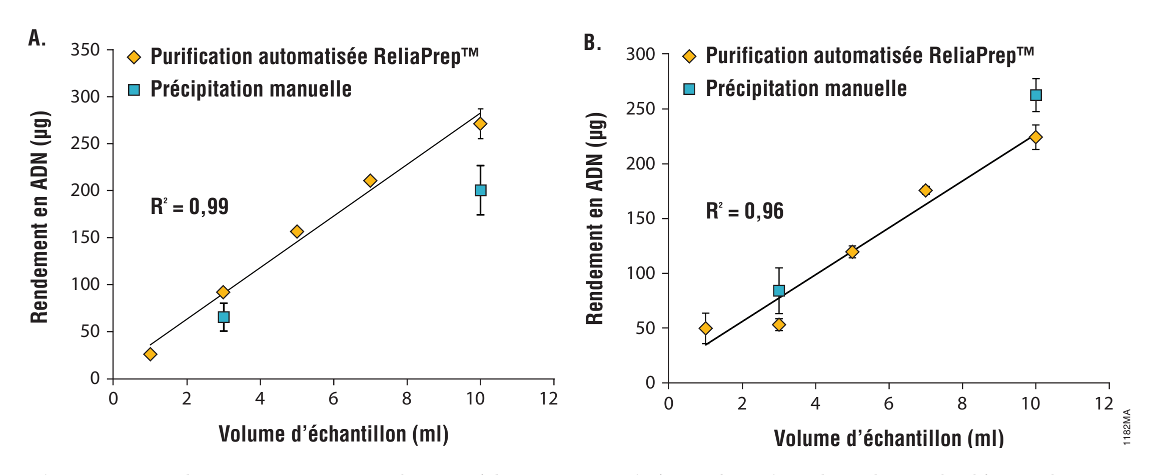


Figure 1. Rendement en ADN par la procédure automatisée en fonction du volume de départ de sang total. Les échantillons de sang total ont été préparés à partir d'un seul sujet. Chaque point est la moyenne de quatre réplicats et les barres d'erreur représentant un écart-type. **Graphique A.** Rendements en ADN déterminé à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop®. **Graphique B.** Rendements en ADN déterminé à l'aide du système QuantiFluor™ dsDNA.

Promega Corporation · 2800 Woods Hollow Road · Madison, WI 53711-5399 USA
Numéro vert aux États-Unis 800-356-9526 · +1-608-274-4330 · Fax +1-608-277-2516
www.promega.com



5.B. Rendement chez plusieurs sujets

Au cours du développement de la méthode ReliaPrep™ pour sang total, nous avons traité des échantillons provenant de plusieurs sujets. La Figure 2 présente le rendement en ADN par leucocyte.

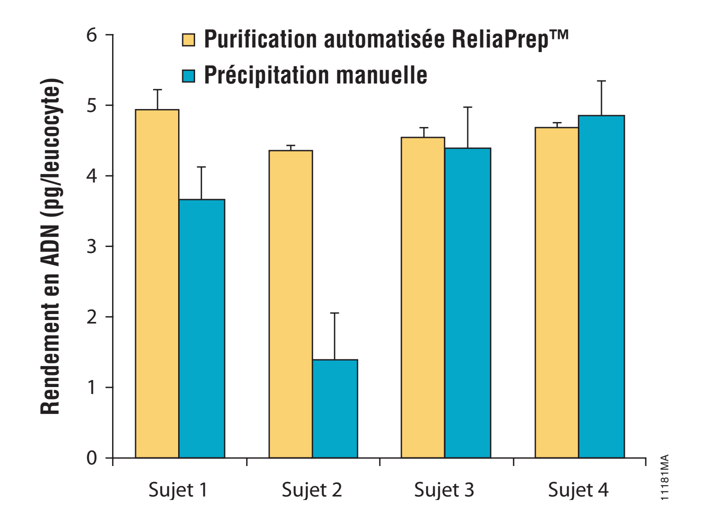


Figure 2. Rendements normalisés en ADN chez plusieurs sujets. Les rendements en ADN sont normalisés en fonction des taux de leucocytes de chaque sujet. Le sujet 1 est celui qui a été utilisé dans la Figure 1. Chaque barre représente la moyenne de quatre réplicats et les barres d'erreur représentant un écart-type.

5.C. Contrôle de contamination croisée

Ce système intégré utilise une série d'étapes de nettoyage pour faire en sorte que les constituants entrant en contact avec les échantillons et partagés entre ceux-ci ne présentent pas de risque de contamination croisée. Pour une description détaillée des méthodes utilisées pour vérifier l'intégrité des échantillons sur l'appareil Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation, veuillez vous reporter à la *note d'application Verification of Sample Integrity for the Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation*, nº AN204, à l'adresse **www.promega.com**.



6. Dépannage

Pour toute question qui ne serait pas traitée ci-dessous, veuillez consulter une succursale ou un distributeur Promega local. Les coordonnées de ceux-ci sont disponibles au site : **www.promega.com**.
Adresse électronique : **techserv@promega.com**.

Symptômes	Causes possibles et commentaires
Faible rendement en ADN	La résine ReliaPrep™ n'a pas été remise en suspension de façon adéquate avant l'emploi. Resuspendez la résine ReliaPrep™ avec soin dans le flacon de réactif avant de la transférer pour la purification des échantillons.
	L'échantillon contenait trop peu de leucocytes par millilitre de sang. Le rendement en ADN dépend du nombre de leucocytes dans le matériel de départ. Les échantillons avec un faible taux en leucocytes présenteront un moindre rendement en raison de la quantité réduite au départ.
	Le volume initial de l'échantillon dépasse la capacité de traitement du système. Le ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System a été optimisé pour purifier de l'ADN à partir de 1 à 10 ml de sang total. Le traitement d'échantillons de sang en dehors de cette plage recommandée peut entraîner une réduction du rendement en ADN et de sa concentration. Si la limite de 10 ml est dépassée, les volumes de traitement nécessaires seront en excès du volume utile maximal des tubes de 50 ml. Le ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System a été optimisé pour des échantillons de sang normaux provenant d'adultes en bonne santé, qui contiennent en général entre $4,5 \times 10^6$ et 1×10^7 leucocytes/ml. Des échantillons de sang total contenant un taux plus élevé de leucocytes peuvent provoquer une capture plus lente de la résine ReliaPrep™ au cours de la purification, ce qui réduit le rendement.
	L'utilisation réussie du ReliaPrep™ Large Volume HT gDNA Isolation System dépend de l'usage des réactifs appropriés dans l'ordre voulu. Vérifiez si tous les réactifs ont bien été placés dans la position adéquate de l'appareil et s'ils ont été dilués correctement avant l'emploi.
ADN dégradé	Des nucléases ont été introduites au cours de la purification ou du maniement. Utilisez des récipients en plastique ou en verre sans nucléases. Utilisez des cônes à filtre pour toutes les étapes de pipetage. Portez des gants à tout moment. Les nucléases éventuellement introduites après l'élution dégradent l'ADN. Pour protéger l'ADN élué contre les nucléases, sélectionnez l'option d'ajouter du tampon TE concentré à une concentration de 1X dans l'éluat final.
	L'ADN était dégradé avant la procédure de purification. Si l'ADN était dégradé avant la purification, l'ADN résultant le sera également.

Promega Corporation · 2800 Woods Hollow Road · Madison, WI 53711-5399 USA
Numéro vert aux États-Unis 800-356-9526 · +1-608-274-4330 · Fax +1-608-277-2516
www.promega.com



6. Dépannage (suite)

Symptômes	Causes possibles et commentaires
Résine ReliaPrep™ dans l'éluat final	Les solutions concentrées d'ADN peuvent être visqueuses. Il peut être nécessaire de prolonger le temps de capture de la résine ReliaPrep™ pour ces solutions visqueuses. Éliminez la résine résiduelle de l'ADN élué en effectuant la centrifugation comme indiqué.
Médiocre pureté de l'ADN	Une médiocre pureté de l'ADN, observée par les rapports spectroscopiques ou dans les analyses en aval, est souvent le résultat d'un retrait incomplet du lysat. Tout ajustement physique du système robotique peut influencer l'efficacité du retrait du lysat. Contactez le service technique à l'adresse **techserv@promega.com** avant de tenter d'ajuster le système robotique.
Message d'erreur de l'appareil	Si le système signale un volume insuffisant dans un bac de réactif, vérifiez que le type de bac utilisé est adéquat et ajoutez du réactif au bac. Si vous observez d'autres erreurs, contactez le service technique de Promega. Notez le message d'erreur précis et l'heure. Vous aurez besoin des fichiers de rapport détaillés EVOware®, enregistrés sous : **C:\ProgramData\Tecan\EVOware\AuditTrail\log**. Les fichiers de rapport utilisent la convention de dénomination suivante : **EVO_aaaammjj_hhmmss.log** (la date et l'heure correspondent à la création du fichier).



7. Produits associés

PRODUIT	CONDITIONNEMENT	RÉF.
Appareil HSM 2.0	1 pièce	A2715
Solution de RNase A	5 ml	A7974
Solution tampon TE 20X (pH 7,5)	25 ml	A2651
Tecan Freedom EVO®-HSM Workstation		Contacter Promega
Protéase alcaline (Alkaline Protease, APA)	130 ml	A1721
Tampon de lyse cellulaire (Cell Lysis Buffer, CLD)	1 400 ml	A1731
Tampon de liaison (Binding Buffer, BBA)	1 600 ml	A1741
Résine ReliaPrep™	115 ml	A1752
Tampon de lavage préparé (Prepared Wash Buffer, WBC)	3 500 ml	A2681
Solution de protéinase K (PK)	23 ml	A5051
Eau sans nucléase	500 ml	P1197
	1 000 ml	P1199
Tampon de lyse tissulaire (Tissue Lysis Buffer, TLA)	500 ml	A5091
Bouteille pour éthanol à 50 %	1 pièce	A2691

Promega Corporation · 2800 Woods Hollow Road · Madison, WI 53711-5399 USA
Numéro vert aux États-Unis 800-356-9526 · +1-608-274-4330 · Fax +1-608-277-2516
www.promega.com